

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 04069570 A

TITLE: TEST PIECE FOR ANALYSIS

Abstract Text (2):

CONSTITUTION: According to a test piece, the ammonia existing in a sample soln. forms an insoluble ion pair (III) with the sodium tetraphenyl borate (II) which is previously incorporated into the test piece. The test piece for detecting hydrolase is produced by adsorbing the above-mentioned enzyme substrate, benzhydrol which is an indicator of free thiol, a buffer and the sodium tetraphenyl borate on the carrier, such as a filter paper or cloth. The higher sensitivity and the exact results of measurement are obtd. by adding an enzyme activating agent, a sensitizer for the indicator or a surfactant to the detecting reagent system.

## ⑫ 公開特許公報(A) 平4-69570

⑤ Int. Cl.<sup>5</sup>

G 01 N 31/22

識別記号

1 2 1 F  
1 2 2

庁内整理番号

9015-2G  
9015-2G

④ 公開 平成4年(1992)3月4日

審査請求 未請求 請求項の数 4 (全5頁)

⑥ 発明の名称 分析用試験片

② 特 願 平2-180554

② 出 願 平2(1990)7月10日

⑦ 発 明 者 浅 井 裕 之 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口1500番地 テルモ株式会社  
内⑦ 発 明 者 川 西 徹 朗 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口1500番地 テルモ株式会社  
内

⑦ 出 願 人 テルモ株式会社 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目44番1号

⑦ 代 理 人 弁理士 高木 千嘉 外1名

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

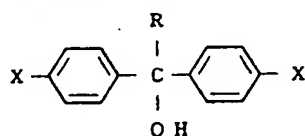
## 分析用試験片

## 2. 特許請求の範囲

(1) 検出試薬およびテトラフェニルホウ酸ナトリウムを吸着性担体に担持させてなる分析用試験片。

(2) 検出試薬を担持させた担体層とテトラフェニルホウ酸ナトリウムを担持させた担体層とを積層させてなる請求項1に記載の分析用試験片。

(3) 検出試薬が一般式(1)



(式中Xは同一又は異なってアルキルアミノ基、アルケニルアミノ基、アリールアミノ基、スルホン酸基又はヒドロキシ基を示し、Rは水素原子又は置換されていてもよい芳香族炭化水素を示す。)

で表わされるベンツヒドロールである請求項1又は2に記載の分析用試験片。

(4) 検出試薬が被測定酵素の加水分解作用によりチオール基を有する化合物を酵素基質および前記一般式(1)で表わされるベンツヒドロールの混合物である請求項1又は2に記載の分析用試験片。

## 3. 発明の詳細な説明

## 〔産業上の利用分野〕

本発明は改良された分析用試験片に関する。

さらに詳しくは、検出試薬およびテトラフェニルホウ酸ナトリウムを吸着性担体に担持させてなる分析用試験片に関する。

本発明の分析用試験片を使用することにより分析試料がアンモニアを含有している場合でもその影響を受けることなく正確に試料中の成分を測定することができる。

## 〔従来の技術〕

検出試薬を吸着性担体に担持した分析用試験片においては、分析試料にアンモニアが含有される場合、アンモニアの影響で分析結果に正又は負の

誤差を生じる場合がある。そこで従来は試験片に酸性成分を含有させたり、可能な限り酸性にした緩衝剤を用いるなどにより試料溶液中のアンモニア分子をアンモニウムイオンに変化させる方法やイオン交換性物質を試験片に担持させてアンモニアを除去する方法がとられていた。

〔発明が解決しようとする課題〕

しかしながら、試験片に酸成分を加えたり酸性の緩衝剤を用いるなどにより試料溶液中のアンモニア分子をアンモニウムイオンに変化させる方法においては、被測定成分が酵素であったり、酵素を反応試薬として用いたりする場合には、その反応至適 pH の範囲が決まっており、使用できる酸や酸性の緩衝剤の種類や量が大きく制限される。さらにイオン交換性物質と試験片に担持させてアンモニアを除去する方法においては、試験片の構造が複雑になったり、検出の速度や感度が低下する可能性がある。

本発明は、このような従来試験片の問題点を解決するためになされたものであり、検出反応系へ

の影響がほとんどなく、適用範囲が広く、簡単な構造でしかもアンモニアの影響を完全に回避できる試験片を提供せんとするものである。

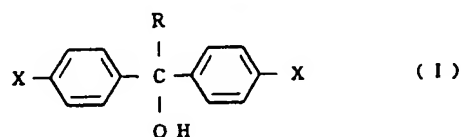
〔課題を解決するための手段〕

上記目的は、以下の本発明によって達成される。

即ち、本発明は、検出試薬およびテトラフェニルホウ酸ナトリウムを吸着性担体に担持させてなる分析用試験片である。

また本発明は検出試薬を担持させた担体層と、テトラフェニルホウ酸ナトリウムを担持させた担体層とを積層させてなる上記分析用試験片である。

さらに本発明は、検出試薬が一般式 (I)



(式中 X は同一又は異なってアルキルアミノ基、アルケニルアミノ基、アリールアミノ基、スルホン酸基又はヒドロキシ基を示し、R は水素原子又は置換されていてもよい芳香族炭化水素を示

す。)

で表わされるベンツヒドロールである上記分析用試験片である。

さらに本発明は、検出試薬が被測定酵素の加水分解作用によりチオール基を有する化合物を酵素基質および前記一般式 (I) で表わされるベンツヒドロールの混合物である上記分析用試験片である。

本発明において使用される検出試薬には特に制限はなく、分析用検出試薬として通常使用されるもの、例えば、呈色剤、呈色指示薬、基質、酵素、緩衝剤、界面活性剤、湿潤剤等が単独又は組合せて用いられる。被測定物質がチオール基を有する化合物である場合には、検出試薬として前記式 (I) を有するベンツヒドロールが好適に使用される。

一般式 I において、X は同一又は異なってアルキルアミノ基、アルケニルアミノ基、アリールアミノ基、スルホン酸基又はヒドロキシ基を示す。アルキルアミノ基としては、ジメチルアミノ、ジ

エチルアミノ、ジ-iso-プロピルアミノのようなジ(低級)アルキルアミノ基が好ましい。アルケニルアミノ基としてはジビニルアミノ基のようなジ(低級)アルケニルアミノ基が好ましい。一般式 I で示されるチオール基検出指示薬の具体例を示すと次の通りである。

- ① 4,4'-ビス(ジメチルアミノ)ベンツヒドロール
- ② 4,4'-ビス(ジエチルアミノ)ベンツヒドロール
- ③ 3-[4,4'-ビス(ジメチルアミノ)ジフェニルヒドロキシメチル]-4-ヒドロキシベンゼンスルホン酸
- ④ 4,4'-ビス(ジメチルアミノ)ジフェニル-(2,7-ジヒドロキシナフチル)メタノール
- ⑤ 4,4'-ビス(ジベンジルアミノ)ジフェニル-(2-ヒドロキシフェニル)メタノール

被検出物質が加水分解酵素である場合、適する緩衝剤としては、ホウ酸緩衝剤、リン酸緩衝剤、トリス緩衝剤、クエン酸緩衝剤等があげられ、そ

の濃度は0.02~0.4mM(好ましくは0.1~0.3mM)で、pHは5~9(好ましくはpH6~7)で使用する。

界面活性剤、湿潤剤としては、トリトン、アルキル硫酸ナトリウム、スパン、トウィーン、ポリエチレングリコール、高級アルコール類、エーテルアルコール類等があげられ、好ましくは炭素数8~12の直鎖のアルコール、炭素数8~15のエーテル結合を含む直鎖のアルコールが用いられる。濃度は含浸液に対して、0.1~4.0%(好ましくは1.0~2.0%)で使用する。

さらに、試験片に検出試薬と異なる波長を有する色素を予め添加しておくことによって、検出試薬の呈色変化が目視でとらえ易くなる場合もある。例えば、4,4'-ビス(ジメチルアミノ)ベンツヒドロールをチオールの検出試薬に用いた場合は、呈色変化が色素無添加時には青色から無色であるが、黄色色素を添加することによって緑色から黄色への変化となり、目視での定量が容易となる。添加色素としては、赤色系でペーシックレッド29、アシッドレッド97、黄色系では、クートラジン、

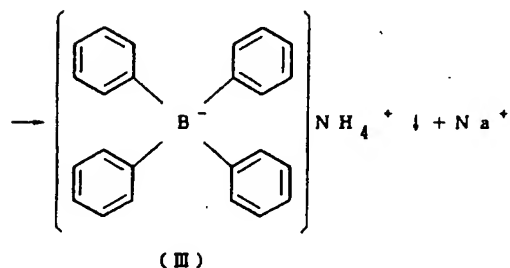
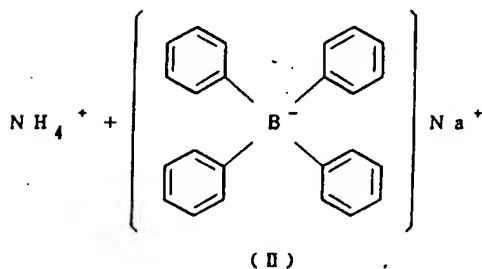
アシッドイエロー29等があげられ、含浸液に対して0.01~0.5%の濃度で添加するのが好ましい。

以上の成分を濾紙又は布帛等の吸着性担体に担持させるためには、それぞれの成分を適当な溶媒例えばアセトンに溶解せしめ、担体に含浸後、乾燥することによって溶媒を除去して得ることができる。このようにして得られた試験片は適当な大きさ(例えば5×5mm角)に切断し、ポリスチレンシート等の支持体に、両面テープ等の接着剤を用いて固定することによって、試料への浸漬が容易となる。

#### 【作 用】

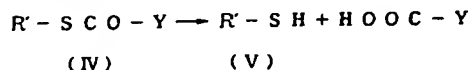
本発明によれば、試料溶液中に存在するアンモニアは、試験片中に予め含有させておいたテトラフェニルホウ酸ナトリウム(Ⅱ)と不溶性のイオン対(Ⅲ)を生成する。このイオン対は、反応溶液に不溶性の白色固体であり、化学的にはほとんど不活性であるので、アンモニアは実質上検出反応系から除去されたことになる。この反応は、検出反応に多用される酵素反応に比較して速いた

め、アンモニアによる妨害反応が回避できる。

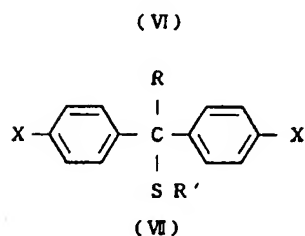
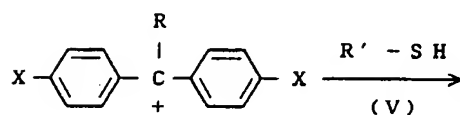
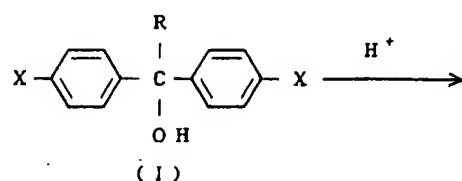


例えば、チオエステル結合を有する酵素基質を使用した加水分解酵素の検出系においては、検出試薬がアンモニアと反応するため、その影響を除

去しなければならない。以下にその検出反応のメカニズムを示す。一般式IVで示されるチオエステルを有する基質は、エステラーゼ、プロテアーゼ等の加水分解酵素の作用によって、次式に示すごとくチオエステル結合が分解されて一般式Vで示される遊離のチオールを生じる。



(上記式中、R'は置換されていても良い芳香族基を示し、Yは被測定酵素によって認識される有機残基を示す。)この遊離のチオールの検出は、下式に示すごとく、一般式Iで示されるベンツヒドロールを用いて行うことができる。すなわち、ベンツヒドロール(I)は測定系に存在する酸によってカチオン(VI)となり、極大吸収波長606nmの青色を示す。これに、加水分解酵素の作用によって生じた遊離のチオール(V)が反応して複合体(VII)を形成する。この複合体は無色のため、606nmの吸光度の減少を測定することによって、チオールを定量することが可能である。



ところが、試料溶液中にアンモニアが存在すると、ベンツヒドロール (I) と反応して黒色の複合体を生成する。すなわち、検出目的の加水分解酵素の反応によって生じる遊離のチオールと複合することになる。実際は、チオールの方がアンモニア

より反応速度が速いので、顕著な妨害にこそならないが、最終的には試験片の感度の低下の原因となる。この反応系にテトラフェニルホウ酸ナトリウムが存在すると、前記反応式に従いアンモニアが除去され、ほとんど妨害を受けなくなる。従って本発明の分析用試験片は尿や汚水のようにアンモニアを含む試料の分析に好適に使用される。

加水分解酵素検出のための試験片は、前記酵素基質と遊離チオールの指示薬のベンツヒドロール、緩衝剤としてテトラフェニルホウ酸ナトリウムを濾紙又は布帛等の担体に吸着させて製造する。また、検出試薬層と、テトラフェニルホウ酸ナトリウムを含有するアンモニア除去層をそれぞれ別の担体に吸着させたものを、積層しても良い。このような積層構造にすることは、担持される検出試薬同士が反応を起こすような場合に特に望ましい。場合によっては、酵素活性化剤や指示薬の増感剤、あるいは界面活性剤を検出試薬系に添加することにより、より高い感度と正確な測定結果が得られる。

次に実施例を示して本発明をさらに具体的に説明する。

#### 【実施例】

濾紙 (アドバンテック社 No 514 A) を、0.2 M ボラックス・塩酸緩衝液 (pH=8.0) に浸し、次いで 60℃ で 50 分通風乾燥した。さらにこの濾紙を、2.0 mM (N-トシル-L-アラニルチオ) ベンゼン、0.3 mM 4,4'-ビス (ジメチルアミノ) ベンツヒドロール、2% エチレングリコールモノヘキシルエーテルおよび種々の濃度のテトラフェニルホウ酸ナトリウムを含有するアセトン溶液に浸し、40℃ で 20 分通風乾燥した。これを 5×5 cm 角に切断し、検体を滴下して 1 分後の呈色変化を試験紙表面の 606nm の反射吸光度を測定することによって観察した。測定には、大塚電子製の MCPD-200 を用いた。

検体に種々の濃度のアンモニア水溶液を用い、アンモニアの反応系に及ぼす影響、およびテトラフェニルホウ酸ナトリウムの試薬への添加によるアンモニアの影響の回避を調べた結果を、表 1 に

示す。

$2 \times 10^{-2}$  unit/ml のキモトリプシン溶液に種々の濃度のアンモニアを添加した検体を用い、同様の実験を行った結果を表 2 に示す。

テトラフェニルホウ酸ナトリウムを試験片に添加しない場合、検体溶液中のアンモニア濃度によって吸光度が大きく変化しているが、添加した場合はほとんどアンモニアの影響は受けていない。


表 1  
吸 光 度

テトラフェニル ホウ酸ナトリウ ム 添 加 濃 度	ア ン モ ニ ア 濃 度		
	0 %	0.1 %	0.2 %
0 mM	0.433	0.380	0.355
25 mM	0.429	0.396	0.361
50 mM	0.435	0.421	0.390
100 mM	0.432	0.431	0.429

表 2  
吸 光 度

テトラフェニル ホウ酸ナトリウ ム 添 加 濃 度	ア ン モ ニ ア 濃 度		
	0 %	0.1%	0.2%
0mM	0.121	0.100	0.082
25mM	0.118	0.109	0.099
50mM	0.124	0.121	0.116
100mM	0.122	0.123	0.121

特許出願人 テ ル モ 株 式 会 社

代 理 人 弁 理 士 高 木 千   
(外 1 名)

May 8, 1962

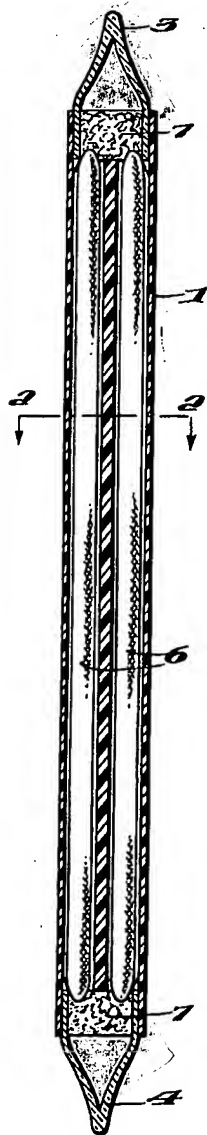
C. GROSSKOPF

3,033,655

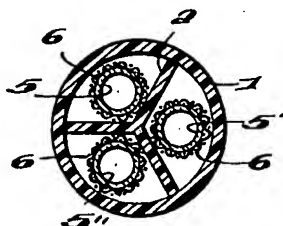
TUBE FOR DETECTING IMPURITIES IN AIR

Filed Dec. 7, 1960

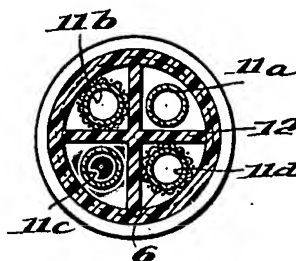
*Fig. 1.*



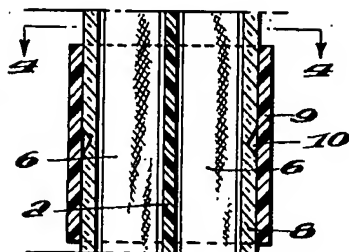
*Fig. 2.*



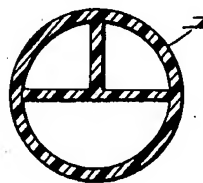
*Fig. 4.*



*Fig. 3.*



*Fig. 5.*



INVENTOR

CARL GROSSKOPF,

BY *Bailey, Stephens & Huetting*  
ATTORNEYS

1

3,033,655

**TUBE FOR DETECTING IMPURITIES IN AIR**  
 Carl Grosskopf, Lubeck, Germany, assignor to Otto  
 Heinrich Drager, Lubeck, Germany  
 Filed Dec. 7, 1960, Ser. No. 74,264  
 8 Claims. (Cl. 23-254)

The invention relates to a test tube for the detection of impurities in air, and especially for the detection of poison gases.

Test tubes have heretofore been used for this purpose. These generally consist of a small glass tube containing suitable chemicals. By sucking air through the tube with an air pump, any impurities present in the air react with the chemicals to produce color changes and can thus be detected. However, these procedures have the disadvantage that generally each impurity, especially in the case of poison gases, must be detected by a special reagent, so that for the detection of poison gases, for example, a large number of different tubes containing different reagents must be provided, which are used one after the other for testing the air.

It would of course be possible to arrange several test tubes containing different reagents side by side in parallel with each other and with an air conveyor to draw the air simultaneously through these tubes. This method, however, has the disadvantage of an unsymmetrical and, in general, inexact controllable flow of air through each test tube. The different streams of air through the parallel arranged test tubes are almost inevitably affected by the fact that these tubes have different air resistances.

It would also seem possible to connect several test tubes containing different reagents one after the other. But this also brings disadvantages, both because of the increase in resistance and because the reagents, because of their vapor pressures, may travel from one test tube into another.

The primary object of the present invention is to overcome the disadvantages of the known testing arrangement.

The invention includes a test tube and provides within this tube walls running in the longitudinal direction of the tube and dividing its interior into two or more chambers lying next to each other. If the air is sucked through this tube, it is distributed to the individual chambers. If the chambers, after the insertion of the reagents, have similar and equal cross-sections, the flow of air through the chambers depends in general on their cross-sections. If the chambers have equal cross-sections and the reagents are similarly arranged in each of them, there is practically an equal flow through all of the chambers.

A simple construction according to the invention consists in providing in a test tube of flexible material an insert of a flexible material. Another advantageous form is one in which a glass test tube is covered on the outside at a predetermined area which is to be broken with a transparent, flexible jacket. Both of these features have the advantage that, within the elongated chambers, breakable ampoules can be arranged, which can be broken by bending of the flexible material which makes up the test tube or, after breaking of the glass test tube, through the transparent jacket, so that the fluids are distributed inside the chambers.

The test tube according to the invention has the advantage that in each chamber a special testing reagent can be introduced, so that with the tube it is possible to carry out simultaneously as many test reactions under similar conditions as the number of separate chambers provided in the test tube.

The arrangement of the reagents in the test tube can be done in different ways. An advantageous construction consists in positioning in the chambers various ampoules

2

which contain the fluid reagents and are covered with an absorptive material. The absorptive material can be wrapped as a jacket around the ampoules. The absorptive material can be cotton cloth, paper or the like. The absorptive material can further hold adsorption media, such as silica gel, or any other inorganic porous carrier.

Further objects and advantages of the invention will appear more fully from the following description, especially when taken in conjunction with the accompanying drawings which form a part thereof.

In the drawings:

FIG. 1 is a vertical cross-section through a test tube embodying the invention;

FIG. 2 is a cross-section on the line 2-2 of FIG. 1;

FIG. 3 shows in vertical cross-section a modified form of the invention;

FIG. 4 is a cross-section on the line 4-4 of FIG. 3; and

FIG. 5 is a cross-section through still a further modification.

The test tube shown in FIG. 1 is formed of a flexible transparent plastic, such as a polyvinyl chloride resin. Within the plastic, flexible outer shell 1 is an insert, which can be made of similar synthetic resin, which consists of three longitudinal walls 2 which are radially positioned and form angles of 120° with each other. In this way three chambers or spaces are formed extending parallel to each other longitudinally of the tube. This insert can be produced from a similar synthetic resin by an extrusion process. An insert formed of such synthetic resin is not completely rigid. It is stiff enough, however, to impart to the tube adequate rigidity.

The tube 1 is closed at both ends by glass closure members 3 and 4, the points of which are breakable. The closures 3 and 4 are so dimensioned that they will fit in the pump head of a conventional gas pump. In the three chambers of the test tube are placed three glass ampoules, 5, 5', 5'', each of which is covered with a jacket 6, for example, of cotton cloth.

The ampoules are of such diameter that they together with their jackets just pass into the sectional chambers. The ampoules are closed at their ends by fibrous inserts 7.

Each of the ampoules, which can, for example, be formed as melting point tubes, is filled with different fluid or liquid reagents. The cloth covers can be impregnated with additional components of the reagent or with absorbents therefor.

The covers can be formed of other materials which are suitable for the testing reaction or for impregnation. For example, wool cloth, synthetic resin cloth, fleece such as filter paper fleece or the like can be used. In these cloths or fleece, adsorption materials such as silica gel can be held.

In some cases, the cloth cover can be left off. It is also possible, instead of using a cloth cover, to adhere the adsorption material, such as silicic acid powder, to the ampoule, for example, by means of a lacquer.

Before the use of the test tube, the points are broken off. Thereafter the test tube is collapsed at a suitable point, so that the ampoules are broken whereupon the reagent fluids wet the covering jackets. The test tube is then put in the mouth piece of the gas pump, by which the air to be tested is drawn through the tube. Because the resistance in the individual chambers is very low and in general is almost equal, the stream of air is distributed equally among the chambers. Because the chambers in the example have equal cross-sections, the amount of air flowing through each chamber is practically the same. This can be accurately determined.

After the air is sucked through, it is possible to determine from the color of the individual reaction chambers which gases are present. In this way it is possible to carry out several test reactions simultaneously. To differentiate



the individual chamber sections, these can be made of different colors.

The construction according to the invention assures a satisfactory intimate contact between the air flowing through and the reagents.

As has been said, the air resistance in the construction described is very low in the individual chambers. It is possible, however, if desired, to adjust the amount of air flowing through the different chambers according to the cross-section of the chambers. This can be done by changing the angles at which the longitudinal walls form with each other, so that the cross-section of the chambers and thus their volume is changed.

In the form of the invention shown in FIGS. 3 and 4, the tube 8 is formed of glass, and is constructed at its ends in the same manner as in FIG. 1. At one point along its length, it is surrounded by a sleeve 9 of flexible plastic material. At this point, the tube is provided with a nick 10 to facilitate breakage.

Inside the tube 8 is a separator 12, in the form of a cross, dividing the interior into a series of four chambers, in which are arranged four ampoules, 11a, 11b, 11c and 11d.

As one example, the tube 11a may be used for testing for cyanogen chloride. The ampoule is filled with a solution of 4-benzylpyridine and barbituric acid dissolved in acetone. This has no cover.

Tube 11b is used for testing for phosgene. It contains a solution of N-phenylbenzylamine in alcohol. It has a cotton cloth jacket impregnated with sodium carbonate solution and dried.

Tube 11c is for testing for Lewisite. The ampoule contains a solution of Michler's thioketone in alcohol. There is no cloth cover.

Tube 11d is used for testing for N-Lost (mustard gas). It contains a solution of Dragendorff's reagent (potassium bismuth iodide in ethyl acetate or ether). The outer covering of the ampoule is a filter paper impregnated with silica gel.

Another possible arrangement is shown in FIG. 5, in which a T-shaped insert is used which divides the interior into two chambers of equal volume and a third chamber of double the volume of either of the first two chambers.

It is also possible through varying the dimension of the inlets into the chambers to change the resistance to the air flow and thereby the throughput of air.

For example if, in the form of FIG. 5, it is desired to use one of the reagents in twice the quantity of each of the other two, this can be placed in the largest chamber, and the entrance to the chamber can be so dimensioned that the flow of air through all three chambers is practically equal.

While I have described herein some embodiments of my invention, I wish it to be understood that I do not intend to limit myself thereby except within the scope of the claims hereto or hereinafter appended.

I claim:

1. A device for testing gases comprising an elongated transparent tubular member, separating means within the member comprising at least one wall extending longitudinally within the tubular member and dividing it into compartments; glass ampoules containing testing reagents within said compartments, at least one of said glass ampoules having an outer covering of liquid-absorbent material, said tubular member having a portion deformable to permit breaking of the ampoules from the outside of the tube.

2. A device as claimed in claim 1 in which said separating means comprises an insert.

3. A device as claimed in claim 2 in which the tubular member and insert are of flexible material.

4. A device as claimed in claim 1 in which the tubular member is of flexible material.

5. A device as claimed in claim 1 in which the tubular member is of glass and the deformable portion is a breakable portion, and a sleeve of transparent flexible material around the breakable portion.

6. A device as claimed in claim 1 in which the liquid-absorbent material comprises a sleeve on the outside of the ampoule.

7. A device as claimed in claim 6 in which the sleeve is formed of cotton cloth.

8. A device as claimed in claim 1 in which the liquid-absorbent material is paper.

#### References Cited in the file of this patent

#### UNITED STATES PATENTS

1,333,850	Kennedy	Mar. 16, 1920
2,908,555	Grosskopf	Oct. 13, 1959